Die Auswirkung der Leberschädigung auf den Kreatingehalt des Organismus

Akbar Ghaffarian

Druck: **ANNELIESE SCHUBERT** - München 5, Corneliusstr. 21 - Tel. 21777

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555216_0040

AUS DER I. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
ehem. komm. Direktor Professor Dr. Dr. G. BODECHTEL

DIE AUSWIRKUNG DER LEBERSCHÄDIGUNG AUF DEN KREATINGEHALT DES ORGANISMUS

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig - Maximilians - Universität zu München



vorgelegt von
Akbar Ghaffarian
aus Isfahan

München 1958

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

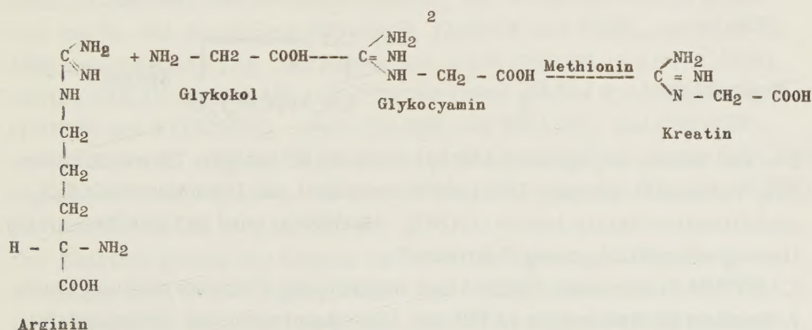
Berichterstatter : Priv. Doz. Dr. W. STICH
Mitberichterstatter : Prof. Dr. Dr. G. BODECHTEL
Dekan : Prof. Dr. W. BÜNGELER

Tag der mündlichen Prüfung: 28. Januar 1958

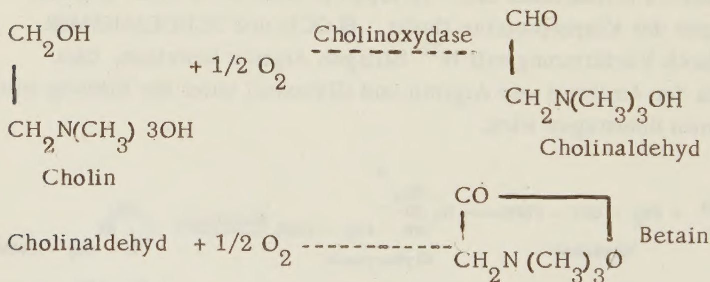
Herrn Priv. Doz. Dr. W. STICH danke ich für die Übernahme des Referates, für die freundliche Unterstützung möchte ich besonders Herrn Prof. Dr. Dr. G. BODECHTEL danken.

Bei den Versuchen des Herrn Priv.Doz.Dr. JORDE (1) ergab sich durch Tetrachlorkohlenstoff und Allylformiat eine Leberschädigung und Herr Dr. JORDE konnte dabei eine Verminderung der Jaffé' positiven Chromogene in Leber, Niere und Muskulatur feststellen. Mir wurde die Aufgabe gestellt, herauszufinden, ob diese Verminderung auch bei Anwendung von Hepatotoxin auftritt.
Herr Dr. Jorde konnte nicht mit Sicherheit sagen, ob der wahre Kreatingehalt bei diesen Versuchen auch vermindert wurde, deshalb habe ich versucht, möglichst den wahren Kreatin- bzw. Kreatiningehalt der Organe bei Gesunden, so wie bei injizierten Ratten zu bestimmen.
Bevor ich diese Frage beantworte und die auf die Leber beschränkte Schädigung und den Kreatingehalt von Leber, Niere und Muskulatur prüfe, möchte ich über die Theorie der Kreatinbildung und deren - Bestimmung sowie über die Theorie des Kreatinstoffwechsel sprechen:
Kreatin entsteht aus den drei Aminosäuren Arginin, Glykokoll und Methionin (BLOCH, SCHOENHEIMER (1)) sowie (BORSOOK und DUBNOFF(1)). Arginin liefert mit Glykokoll zunächst Guanidinoessigsäure "Glykocyamin" durch Transamidierung. SCHOENHEIMER und seine Mitarbeiter haben gezeigt, dass man nach der Verfütterung einer mit N^{15} markierten Aminosäure den - Isotopen N nahe zu in allen anderen Aminosäuren der Körperproteine findet. BLOCH und SCHOENHEIMER konnten durch Verfütterung mit N^{15} haltigen Arginin beweisen, dass tatsächlich der Aminrest von Arginin und Glykokoll unter der Bildung von Glykocyamin übertragen wird.

2

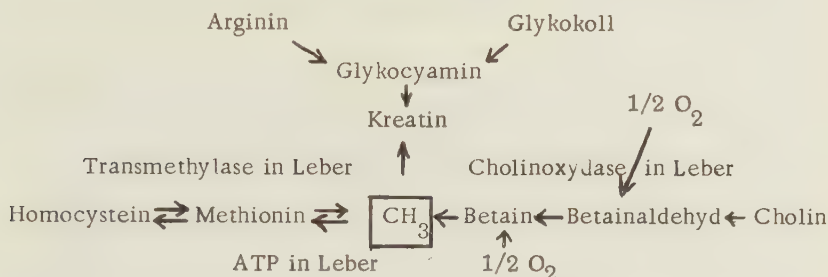


Über die Bildung von Kreatin im Tierkörper durch Methylierung der Guanidinoessigsäure liegen zahlreiche Arbeiten vor (BLOCH, SCHOENHEIMER (2)), sowie (ABDELHILDEN und BUADZE), (BAUMANN und HINES), (BARRENSCHEEN und VALYINAGY), (VIGNEAUD, COHN, CHANDLER, SCHENK und SIMMONDS), und (LEHNARTZ und JENSEN). Als Methylgruppen donatoren erwiesen sich wirksam 1-Methionin (VIGNEAUD, COHN, CHANDLER, SCHENK und SIMMONDS), sowie (BLOCH und SCHOENHEIMER (2)), (SCHENK, SIMMONDS, COHN, STEVENS und VIGNEAUD). 2, Cholin (SIMMONDS, COHN, CHANDLER und Vigneaud). 3, Betain (STETTEN, DE WITT jr.), sowie (VIGNEAUD) und (SIMMONDS, CHANDLER und COHN) und (KEST und HANTSMAN) wobei das Betain am wirksamsten zu sein scheint. Auf der anderen Seite machten (VIGNEAUD, CHANDLER, MOYER und KEPPEL) die Beobachtung, dass Methionin frei ernährte Ratten auch dann wuchsen, wenn man ihnen Homocystein und Cholin zur Verfügung stellte. Sie zogen den Schluß, dass der Organismus Methionin aus Homocystein und Cholin bilden kann. DUBNOFF meinte Voraussetzung für eine vom Cholin ausgehende Transmethylierung ist seine Oxydation durch die Cholinoxydase zu Betainaldehyd.
Der Mensch und die meisten Tiere oxydieren Cholin durch das in der Leber enthaltene Enzym "Cholinoxydase" zu Betainaldehyd (DOBNOFF), sowie (DENNING, KEITH und DAY).



Das von Betain abgegebene Methyl kann zu beliebigen Transmethylierung verwendet werden. Das geht einwandfrei aus Versuchen mit CD_3 enthaltendem Betain hervor (LANG), Methionin wird bei der Transmethylierung vermutlich zuerst "aktiviert".
CANTONI nimmt eine am S-Atom angreifende Phosphorylierung durch Adenosintriphosphorsäure (ATP) an. Die experimentelle Unterlage für diese Vermutung besteht darin, dass Methionin in gereinigten Leber-

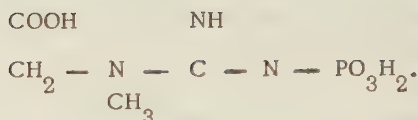
präparaten die Spaltung von ATP fördert. BORSOOK und DUBNOFF (2) vermuten, dass der eigentliche Methyldonator ein Phosphorylierungsprodukt von Methionin ist.



Es ist anzunehmen, daß für jede Methylierung eine spezifische Transmethylase vorhanden ist (DUBNOFF und BORSOOK). Auf der anderen Seite liegen Arbeiten vor die besagen, dass im Organismus neben der Transmethylierung auch eine, wenn auch nur im beschränkten Umfang ablaufende Biosynthese durch labilen Methylgruppen möglich ist (VIGNEAUD, RESSLER, RACHELE). MENNE und ferner auch STEENSHOLT haben eine Bildung von Kreatin im Skelettmuskel aus Histidin beobachtet, aber andere Autoren wie TESAR und RITTENBERG konnten jedoch durch N^{15} keinen Übergang von Histidin in Kreatin nachweisen. Kreatin findet sich in allen Geweben. Unsere Kenntnisse über das - Vorkommen des Kreatins in Organen und Körperflüssigkeiten ist durch zahlreiche Arbeiten wie die von (BEARD) und (BÜRGER) und vielen anderen wesentlich erweitert worden.

Der Skelettmuskel enthält wesentlich mehr Kreatin, 200 - 800 mg % je nach Tierart und Bestimmungsmethode, bei Menschen sind es gegen 400 mg %, bei Kaninchen 525 mg %, (MEYER und FINE), sowie (RIESSER) und (LEHNARTZ), bei Ratten 530 mg % (ENNOR und STOCKEN), sowie (ABELIN und RAAFLAUB). In der Leber sind es 3, 8 - 37, 6 mg % (ENNOR und STOCKEN), sowie (BAKER und MILLER), und (BECKER), in der Niere 10 - 29 mg % (JANNY und BLATHERWICK), sowie (BECKER) und (BAKER und MILLER), im Herz 165 - 293 mg% (ALBURN und MEYER) sowie LEHNARTZ) und (ABELIN).

Der Kreatiningehalt der Organe ist wesentlich geringer. Der Skelettmuskel enthält 2 - 15 mg% (MEYER und FINE (2) sowie (SCHAFFER). Das Kreatin ist im nicht ermüdeten Muskel zum großen Teil in Form seiner Phosphorsäure Verbindung vorhanden.



Diese Verbindung wurde von (EGGLETON und EGGLETON) entdeckt und sie nannten es Phosphagen. FISKE und SUBBAROW, erkannten dass es Kreatin enthält. Schließlich stellten MEYERHOF, LOHMANN ihre Zusammensetzung aus 1 Molekül Kreatin und einen Molekül Phosphorsäure fest. In den Organen, insbesondere im Muskel, liegt der größere Teil des Kreatins (50-60 %) in Form von Kreatinphosphorsäure (Phosphagen) vor. Während der Kontraktion zerfällt das Phosphokreatin in Kreatin und anorganisches Phosphat.

Phosphokreatin + ADP. ------Kreatin + ATP

ATP. + H_2O ------ Kreatin + Anorgan.Phos.

Phosphokreatin + H_2O ------------ Kreatin + Anorganisches Phos.

Die Phosphorylierung erfolgt durch ATP. Die Reaktion ist reversible (LANG). Diese durch das Enzym "Kreatinphosphokinase" bewirkte Reaktion wird nach ASKONAS durch Thyroxin gesteuert. Das Kreatin spielt im Energiestoffwechsel eine wichtige Rolle als Bestandteil energiereichen Kreatinphosphorsäure (EGGLETON und EGGLETON), sowie LEHNARTZ) und (LUNDSGARD). LUNDSGARD entwickelte auf Grund seiner Beobachtungen über die "milchsäurelose" Kontraktion die Hypothese, dass nicht die Milchsäurebildung die primäre Reaktion ist, welche die Energie für die Kontraktion liefert, sondern der Zerfall des Phosphokreatins. Den Anaeroben Glykogen-Zerfall liefert die für den ständigen wiederaufbau des Phosphokreatins nötige Energie. Die Bindung des Phosphat an das Kreatin ist eine energiereiche Phosphatbindung, etwa 11000 cal/Mol. Das Phosphokreatin hat im Muskel die Funktion eines Speichers energiereicher Phosphatbindung, die unmittelbar für die Arbeitsleistung zur Verfügung steht und ständig auf Kosten der aus dem zerfallenden Kohlenhydrat frei werdenden Energie neu gebildet werden. Außer der Bildung von Phosphagen und Dehydratisierung zu Kreatinin nimmt Kreatin an keiner Umsetzung im Organismus teil. Metaloxide und Salze bewirken oxidative Aufspaltung in Methylguanidioglyoxylsäure und weiter in Methylguanidin und Oxalsäure (BAUMANN und JNGVOLDSEN). LIEBIG hatte schon 1847 das Kreatin als Mutter-

substanz des Kreatinins betrachtet. Heute wissen wir, dass der Übergang von Kreatinin in Kreatin sich sehr leicht unter Einwirkung von Säuren, Alkalien vollzieht (HAHN und BARKAN). Nach FÜRTH liegt die gegenseitige Umwandlung von Kreatinin in Kreatin Gleichgewichts-Reaktionen zugrunde.
Diese Reaktion ist wesentlich vom PH der Lösung abhängig (LANG). Saure Reaktion begünstigen den Übergang von Kreatin in Kreatinin, alkalische Reaktion die Hydratation zu Kreatin.
Kreatin und Kreatinin Bestimmung: Leider haben wir bis jetzt keine spezifische Methode um den wahren Kreatin-, bzw. Kreatiningehalt der Organe zu bestimmen. Wir können Kreatin nur mit Diacethylreaktion direkt bestimmen, bei der in alkalischer Lösung eine violettrote fluorescierende Färbung entsteht (HARDEN und NORRIS). Diese Reaktion ist bei vielen Guanidinderivaten, die noch eine freie Aminogruppe am Guanidin besitzen positiv und fällt deshalb mit Kreatinin negativ aus. So geben Arginin, Guanidin, Glykocyamin, unter gleichen Bedingungen eine 9 mal schwächere Färbung als Kreatin,(LANG und LEHNARTZ). Zusatz von -Naphtol erhöht die Empfindlichkeit der Reaktion (BARRIT). Für die direkte Kreatin-Bestimmung haben EGGLETON, ELSDEN und GOUGH eine Methode angegeben, die ENNOR und STOCKEN insofern modifizieren, dass sie den störenden Einfluss von Substanzen mit SH- Gruppen durch Zugabe von P-Chlor-quecksilber (II)-bezoessäure fast vollständig beseitigen.
Für die anderen Reaktionen muß Kreatin erst in Kreatinin umgewandelt werden. Für diese Umwandlung sind eine Reihe von Verfahren angegeben, von denen das schönste und trotzdem quantitative das 24 stünige Erhitzen mit n HCl bei 60° sein dürfte (HAHN, BARKAN). Einige andere Angaben seien hier noch angeführt:
Erhitzen im Autoklaven für 20 Minuten auf 130° oder 10 Minuten auf 155° (FOLIN), 80 Minuten auf 121° (LAMBERT) und drei stündiger im Wasserbad (RÖTTGER). Hier ist zu berücksichtigen, dass die Differenz von Gesamtkreatinin minus präformiertem Kreatin zu multiplizieren ist.
Für die Kreatinin-Bestimmung mit Jafféscher Reaktion sind verschiedene Modifikationen angegeben, die sich im wesentlichen auf Anpassung der Verfahren an die jeweiligen Photometer beziehen (MÜLLER). Für die Kreatinin-Bestimmung mit der Jafféschen Reaktion sind erforderlich: I- Reine Pikrinsäure, je nach der Methode kalt gesättigte (für die Methode nach LIEBE und ZACHERL) und heißgesättigte (für die Me-

thode nach POPPER, MANDEL und MAYER). Arbeitet man in schwach alkalischer Lösung, so ist die Farbe zwar beständiger und der Leerwert geringer, aber auch die Empfindlichkeit läßt nach (LEHNARTZ), sowie (RÖTTGER). Auf der anderen Seite meinen BENEDICT und BEHRE, dass die Reaktion mit Pikrinsäure für Kreatinin nicht spezifisch ist. Verwendet man an Stelle von Pikrinsäure 3 - 5 Dinitrobenzossäure, so wird die Spezifitität erhöht, gleichzeitig aber die Farbe unbeständiger.
2- Eine 10%ige Natronlauge aus chemisch reiner NaOH Merck.
3- Für die Kreatinin-Bestimmung nach Folin ist noch absolut reines Kreatinin als Standardsubstanz erforderlich. Folin selbt gibt eine Methode an, um damit reines Kratinin darzustellen.
Hier möchte ich anschliessend einige Methoden für die Kreatinin-Bestimmung angeben, damit man selbst die einzelnen Methoden beurteilen kann.
Kreatinin-Bestimmung im Harn nach LIEBE und ZACHERL: 1- Kalt gesättigte Pikrinsäurelösung: 1,2 gr. Pikrinsäure werden in 100 ccm Aqua dest heiß gelöst. 10 ccm der abgekühlten Lösung dürfen nach Zusatz von 1 ccm 10%iger NaOH und Auffüllen auf 25 ccm im Bereich der Filter S 53 mindestens 15 Min. keine Absorption zeigen;
Den erforderlichen Reinheitsgrad der Pikrinsäure erreichen die Autoren durch Umkristallisieren aus Benzol.
2- Natronlauge 10%ig.
Der Harn muß falls vorhanden, von Aceton, Acetessigsäure, Schwefel, Wasserstoff und größeren Mengen Eiweiß befreit werden. Trübung ist durch Zentrifugieren zu beseitigen, die eigene Farbe stört nicht.
1 ccm Harn wird in einen 100 ccm Maßkolben pipettiert, mit 20 ccm obiger Pikrinsäurelösung und darauf aus der Bürette mit 1,5 ccm 10%iger NaOH versetzt. Nach gutem Mischen läßt man die Lösung 10 Min. stehen, füllt bis zur Marke auf und mischt abermals gut. Für die Bestimmung wählt man eine Schichtdicke, bei der obige Lösung Werte für die Durchläßigkeit gibt, die zwischen 20 und 50 % liegen. Das sind in den meisten Fällen 10 mm.
Vergleichsflüssigkeit ist Wasser und als Filter dient S 53. Die Methode nach NEUBAUER ist nichts anderes als die vorher beschriebene Methode nur für Plasma, natürlich muß man erst das Serum enteiweißen. Die Art der Enteiweißung ist von großer Bedeutung (OWEN, IGGO, SCANDRETT und STEWART). Es liegen viele Arbeiten über die Art der Enteiweißung vor (ABELIN und RAAFLAUB).
Kreatinin-Bestimmung in Blut nach Popper, MANDEL und MAYER:

Reagenzien: Gesättigte Pikrinsäure, 10 %ige NaOH (chemisch reiner NaOH Merck). Die Herstellung der Pikrinsäure muß nach den Vorschriften von BENEDICT bzw. RAPPAPORT umkristallisiert werden. Sie wird im Vakuumexikkator bei 80° bis 90° getrocknet, in Eisessig gelöst und zum Sieden erhitzt.
Die heiße Lösung wird durch einen mit einem faltenfilterversehenen, erwärmten Trichter in ein Becherglas filtriert und über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Der Rückstand wird im Vakuum getrocknet, bis der Eisessig vollständig verschwunden ist. Die heißgesättigte Lösung muß nach dem Auskühlen filtriert werden, damit sie ganz klar ist. Zu 12 ccm gesättigter Pikrinsäure werden 4 ccm Plasma oder Serum tropfenweise zugesetzt, das Gemisch wird 15 Sekunden lang im siedenden Wasserbad erwärmt und sofort durch ein quantitatives Filter (Schwarzband Schleicher & Schüll Nr. 597) filtriert. Zu 10 ccm des kalten Filtrats werden 0,5 ccm einer 10 %iger NaOH Lösung zugesetzt. Da sich mitunter nach dem Laugenzusatz kleinstr Trübungen bilden, wird einige Zeit vor der Kolorimetrie, also 15 Min. nach dem Laugenzusatz nochmals filtriert und 20 Minuten nach dem Laugenzusatz die Ablesung vorgenommen. Da im monochrometrischen Licht abgelesen wird, ist es unbedingt notwendig auch auf feinste Trübungen zu achten, die bei der gewöhnlichen Kolorimetrie keinen Einfluß ausüben die absolute Extinktion aber vermehren und so einen zu hohen Wert ergeben können. Mit diesen Methoden kann man sowohl Kreatinin, wie auch andere Chromogene bestimmen, die dieselbe Farbreaktion mit Pikrinsäure aufwiesen. Das veranlasste BEHRE und BENEDICT zu glauben, dass überhaupt kein Kreatinin im Blut vorhanden sei, nach dem HANTER und CAMPERL, feststellen konnten, dass eine Substanz im menschlichen Blut nicht Kreatininsein kann, aber genau so eine Reaktion mit alkalischer Pikrinsäure gibt, wie Kreatinin. Später hat HANTER (1928) 38 andere Substanzen nachgewiesen, die alle eine positive jaff'Reaktion geben.
Manche von denen sind nahe verwandt mit Kreatinin, manche sind auch weit davon entfernt. So blieb es immer noch ein Problem, ob Kreatinin, bzw. Kreatin im Blut, wie auch im Organextrakt vorhanden sind oder nicht und in welchem Verhältnis sie auftreten.
DUBNOS und MILLER konnten von der Erde Bakterien züchten, die in der Lauge sind, Kreatinin abzubauen. Später haben andere Forcher auch ähnliche Arbeiten gemacht (SHIGERU AKANATSU und RYUJI MIYASHITA), während es HAUGEN und BLEGEN gelungen ist Oxal-

säure und Lloydsche Reagens das Pseudo-Kreatinin zu entfernen. DUBOS und MILLER haben Versuche gemacht, um zu sehen in welchem Verhältnis sich die Baktrien am besten züchten lassen. Dazu haben sie die Mischung von Erde und Kreatinin in einem 1- Sauern Milieu (durch Zusatz von acid Potassium Phosphat mit saurer Reaktion). 2- Neutralem Milieu (durch Calcium Carbonat). 3- Aerobik Inkubation (mit genug Wasser). 4- Anaerobik Inkubation (ohne Wasser) 5- Verschiedenen Temperaturen (30^o, 37^o, 59^o) überimpft und man konnte sehen, dass Kreatinin innerhalb von 4 - 5 Tage sowohl von sauren wie vom Neutralen Milieu verschwand, wenn aerobik überimpft wurden war und es unter der Temperatur von 30^o, bzw. 37^o stand. Bei 59^o und anaerobiker Inkubation war nach zwei Wochen, noch genau so viel Kreatinin in der Mischung vorhanden. Dann haben sie die Erdmischung in der das Kreatinin verschwunden war, in ein Leitungswasser geimpft, in dem der einzige Bestandteil, Kreatinin war und die Mischung weiterhin bei 37^o inkubiert. Später haben MILLER, ALLINSON und BAKER die Zusammensetzung des Leitungswassers auch genau angegeben, in dem die Bakterien am besten ihre Aktivität behalten.
Sie haben noch Difco dazu gegeben, in der die Bakterien ihre Fähigkeit verbessern können. DUBOS und MILLER haben, wie schon gesagt, bei verschiedenen PH-Werten untersucht. Später haben MILLER, ALLINSON und BAKER weiterhin nur bei PH=7 geimpft.
Um das wahre Kreatinin zu bestimmen, muß man das zurückgebliebene Chromogen nach einstündiger Inkubation mit Bakterien von präformiertem Kreatinin, das nach der jaffe'schen Reaktion zu bestimmen ist, abziehen. MILLER, ALLINSON, BAKER geben an, dass man wöchentlich 1 ccm von der Mischung in 50 ccm Nährmedium überimpfen soll, damit die Bakterien ihre Aktivität nicht verlieren, dann soll man sie zentrifugieren, waschen und in Aqua des suspendieren. Diese Suspension kann man dann im Kühlschrank aufbewahren.
Für unsere Untersuchungen mußten wir möglichst das reine Kreatinin bestimmen. Ich folgte Herrn Dr. Jorde's Vorschlag und arbeitete mit der Methode, die zuvor ausführlich beschrieben worden ist. Dazu haben wir 50gr. Gartenerde, 0,4 gr. Kreatinin, 5 gr. $CaCO_3$ und 10 ccm Leitungswasser genommen. Die Mischung wurde in einem 1000 ccm Erlenmeyer Kolben für 4 Tage bei 37^o inkubiert, dann der Kreatiningehalt der zurückgebliebenen Erde bestimmt, nachdem ein Teil davon in einem bestimmten Mengenwasser gelöst wurde. Alles Kreatinin war verschwunden. Die Erde, in der das Kreatinin abgebaut wurde, haben

wir dann in das Nährmedium geimpft. Das Nährmedium hatte keine Difco gehabt. Nach einigen Wochen wurde eine Agar Kultur gemacht und wir konnten vier verschiedene Bakterien in der Kultur nachweisen. 1- Gelbe Kolonien. 2- Weiße Kolonien. 3- Glänzende farblose Kolonien. 4- Rasenförmige.

Mikroskopisch fanden wir: 1, Uniform gram positive Stäbchen + vereinzelte plumn gram negative Stäbchen mit Spuren von uniform.
2, Gram negative Stäbchen 3, durchsichtige gram positive Stäbchen.
4, Kleine gram negative Stäbchen.

Die gelben Kolonien aus der Agar Platte, haben wir in eine neue 1 Liter Erlenmeyer Flasche mit 50 ccm Nährmedium geimpft, um damit aus diesen Bakterien bekommen. So konnten wir jedes Mal in der Flasche den Prozentsatz der gelben Kolonien gegenüber den weißen Kolonien vermehren, bis der schließlich nur noch aus gelben Kolonien bestand. Unser Nährmedium hatte ein 500 mg%iges Kreatinin und wir wollten versuchen, Bakterien zu züchten, die soviel Kreatinin innerhalb einer Woche abbauen können. Dabei haben wir immer in 50 ccm Nährmedium nur 1 ccm Bakterien geimpft. Das Nährmedium war ohne Difco. Anfangs konnten die Bakterien bis zu 376,6 mg %iges Kreatinin abbauen. Interessant dabei ist, dass die Aktivität der Bakterien immer langsam nachgelassen hat. Die Fähigkeit der Bakterien konnte ich dadurch verbessern, indem ich neue agar Platten machte. Wir konnten dabei aber kein 500 mg%iges Kreatinin abbauen. Das Nährmedium, das MILLER, ALLINSON und BAKER für die Züchtung der Bakterien benützten, hatte eine 200 mg%ige Difco Lösung gehabt, damit die Bakterien bessere Aktivität bekamen. Hier wurde mir erlaubt, mit je 50 ccm Nährmedium 0,5 ccm Difco zu mischen.

Danach wurde das gesamte Kreatin des Nährmediums abgebaut außer 0,85mg%. Deshalb habe ich den Leerwert der Difco für 0,5 ccm in 50 ccm Aquadest bestimmt. Es war 0,85 mg%.

Aus Mangel an Difco habe ich aber weiterhin an Stelle der Difco mehr als 1 ccm Bakterien überimpft.

Mit der Zeit waren die gelben Kolonien weniger geworden, praktisch hatten wir am Ende nur weiße- und farblose Kolonien.

Die weißen Kolonien konnten nicht soviel Kreatinin abbauen wie die gelben Kolonien. Das veranlasste mich nun wieder von Neuem Gartenerde zu nehmen und zu versuchen, gelbe Kolonien zu züchten. Dieses Mal habe ich aber angangs Difco mit 10 ccm Wasser gemischt und ich erhielt gelb-orange Kolonien. Als ich keine Difco hinzugab wurden

sie gelb.
Die Bakterien in dem Erlenmeyer wurden am Ende der Woche zentrifugiert, gewaschen uns suspendiert. Die Bakterien mußten mindestens mit 4000 Umdrehungen in der Min. zentrifugiert werden, jedes Mal für eine halbe Stunde.
Die gewaschenen Bakterien wurden in Aqua dest suspendiert. Der Tag an dem die Bakterien suspendiert wurden, wurde auch angegeben.
Um die Aktivität der Bakterien zu bestimmen, habe ich einen 200 ccm Erlenmeyer Kolben 9 ccm Nährmedium mit Kreatiningehalt von 500 mg% 0, 3 ccm Difco, 0, 2 ccm Phosphat Puffer und 0, 5 ccm Bakteriensuspension gegossen, erst die Erlenmeyer Flasche für ein paar Sekunden in Wasser erwärmt und dann für eine Stunde in 37^{o} Temperatur gelegt, anschliessend zentrifugiert und den Kreatiningehalt bestimmt, 240 mg % des Kreatinin waren abgebaut. Ich habe auch versucht, ohne Difco die Aktivität der Bakterien zu bestimmen. Ich konnte ohne Difco mit einer Mischung von gelb-weißen-Kolonien ein 20 mg%iges Kreatinin abbauen.
Das zur Herstellung des Hepatotoxin gebrauchte Antigen wurde auf folgende Weise (nach MEYER-KRAHMER) hergestellt. Als Versuchstiere hatten wir zwei Kaninchen und weiße Ratten zur Verfügung. Den Kaninchen wurde Rattenleberextrakt, wöchentlich in ansteigender Dosis (10ccm 5-55 %iges Extrakt) i.p. gespritzt. YOKOUTI hat versucht, mit Hilfe von 3%iger Antiformin Lösung das Antiserum gegen Leber-Protoplasma, Leberzellkern-Lösung und Leberzellkernbrei herzustellen. Wir haben das Antiserum nur gegen Leberzellbrei hergestellt. Um nur Hepatotoxin und kein Antiserum herzustellen, haben wir wie MEYER-KRAHMER und ferner YOKOUTI versucht, auf die Entblutung der Leber zu achten, die zur Sensibilisierung der Kaninchen diente. Dazu wurden die Ratten mit Äther narkotisiert und zur Wahrung der Sterilität wurde die Vena Cava Caudalis zwischen Vena Hepatica und Vena Renalis unterbunden. Wir mußten hier sehr aufpassen, um die Leber nicht zu verletzen. Dann wurde mit einer stumpfen Nadel die Rattenleber vom rechten Vorhof aus durchgespült. Meine Kollegen haben auch die Vena Cava Caudalis zwischen - Hepatica und Vorhof unterbunden, um nur die Leber durchzuspülen.
Ich habe die Vena Cava Cranialis mit Vena- ateria- Polmonalis unterbunden, um meine Nadel frei bewegen zu können, ohne die Venenwand durchzustechen. Die Leber wurde dann im Mörser zerrieben und in der gewünschten Dosis mit physiologischem Kochsalz verdünnt.

Nach genügender Immunisierung (mindestens 18 maliger Injektion, von 18,4,55) wurde dem Kaninchen Blut aus der Ohrvene entnommen, das Serum gewonnen und inaktiviert (1:2 Std. bei 58°). Das Serum wurde dann den Ratten i.v. gespritzt. (1ccm Hepatotoxin pro 100 gr. Ratten). Natürlich haben wir auch versucht, die Präzipitintiter des Kaninchenserums zu bestimmen.
Es wurde eine Verdünnung mit physiologischer NaCl von dem Kaninchenserum, je 1 ccm, hergestellt.
Die Röhrchen waren sauber und steril. 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, und 1 ccm NaCl. Zu den einzelnen Röhrchen wurde je 0,1 ccm Antiserum unterschichtet. Das Antiserum wurde nach der Methode von HALLMANN hergestellt.
Die Bewertung der Resultate war für uns anfangs nicht leicht, besonders, wenn es uns nicht gelang, das Antiserum vollkommen klar zu bringen. Wir konnten zwar ganz deutlich einen Ring sehen, der gegenüber dem Serum gut abgesetzt war, aber die Farbe war von der Antiserumfarbe nicht gut zu differenzieren. Das veranlasste mich, wesentlich länger i.p. zu spritzen. MEYER-KRAHMER haben 8 - 13 mal i.p. gespritzt, aber ich konnte erst am 23.8.55 (also erst nach 18 maliger Injektion) den Ratten i.v. spritzen, nachdem der Präzipitin-Titer gegenüber den gesunden Ratten ganz deutlich positiv ausfiel. Während der Untersuchung haben wir außerdem den Kaninchen weiterhin wöchentlich 10 ccm 55 %igen Leberextrakt i.p. injiziert. Der Präzipitin-Titer war im Verhältnis 1:128. Wir haben außerdem versucht, möglichst wenig Ratten auf einmal zu spritzen und dann die Organextrakte nicht zu lange stehen zu lassen. Die Ratten hatten alle mindestens 14 Tage vor der Untersuchung Diät bekommen. Sie bestand aus 10 gr. Brot, 10 gr. Hafer, 10 gr. Kleie, 5 gr. Rüben und außerdem viel Wasser.
Wir gliederten die Versuchstier in folgende Gruppen auf:
I, Normale Tiere, welche nach 14 Tagen Standarddiät getötet wurden
II, Tiere, die drei Tage nach der Injektion des Hepatotoxins getötet und dann untersucht wurden.
III, Tiere, die 14 Tage nach der Injektion des hepatotoxischen Serum getötet und anschliessend untersucht wurden.
Nach der vorgesehenen Versuchsdauer wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet, Leber, Niere, Herz und Muskulatur zur Untersuchung entnommen. Von der Letzteren entnahmen wir alle erreichbaren Muskelpartien. Das Herz wurde anfangs mit der Muskulatur zusammen auf

Kreatin- bzw. Kreatiningehalt untersucht, aber später getrennt. Für die Herstellung der Organextrakte haben wir die Leber, Niere, Herz gut zerkleiner, getrennt abgewogen und dann jedes Organ für sich allein in einem 100 ccm Erlenmeyer Kolben gebracht, 20 ccm Wasser zugegeben, im Dampfbad eine Stunde gekocht und filtriert (feuchtes Filterpapier). Die Filtratsubstanz wurde nochmals mit 20 ccm Wasser eine Stunde gekocht und dann filtriert. Beide Filtrate wurden zusammen in einen 50 ccm Messkolben gefüllt das Filterpapier mit Rückstand mit kochendem Wasser gespült und in einen 50 ccm Messkolben bis zur Marke laufen gelassen. Die Muskeln wurden gut zerkleinert, abgewogen in einen 200 ccm Erlenmeyer Kolben gebracht und zweimal im Dampftopf je eine Stunde gekocht, nachdem 100 ccm Wasser rein gegossen wurde. Jedes Mal wurde filtriert, der Filtratrückstand mit 50 ccm kochendem Wasser gespült und genau auf 250 ccm aufgebracht.
Dann wurden wie schon gesagt, die Organextrakte für Kreatininbestimmung nach POPPER, MANDEL und MAYER verwendet. Der Chromogengehalt der Extrakte wurde nach MILLER, BAKER und ALLINSON bestimmt. Die Differenz der beiden Resultate zeigte den wahren Kreatiningehalt. Den Kreatiningehalt nach Bakteriensuspension habe ich wie folgt berechnet:
Wir konnten den Chromogengehalt der 10 ccm Extraktsuspension nach einstündiger Suspension bei 37^{o} bestimmen. Damit hatten wir z.B. "A mg%", das heißt, A mg Chromogen in 100 ccm Suspension, oder mit anderen Worten, in 10 ccm Suspension war $\frac{10 \times A}{100}$ = mg Chromogen vorhanden. Genau soviel Chromogen ist in 9 ccm Organextrakt vorhanden gewesen, das heißt, $\frac{A \times 10 \times 100}{100 \times 9}$ = mg % Chromogen sind im Organextrakt vorhanden.
Wir haben natürlich den Leerwert der Difco Lösung erst von A mg% abgezogen.
Um den Kreatingehalt der Organe zu bestimmen, haben wir nach RÖTTGER erst mit HCl gekocht und nach dem Abkühlen mit derselben Menge NaOH wieder neutralisiert und auf die Anfangsmenge im Meßkolben aufgefüllt. Für Leber und Niere des vorbehandelten Tieres haben wir keine Difco mehr hinzugesetzt, haben aber an Stelle von 0,5 ccm Bakteriensuspension 0,8 ccm benützt, weil die Bakterien in der Lage sind, ohne Difco genug Kreatinin abzubauen.
MILLER, BAKER und ALLINSON haben von Anfang an kein Difco mehr hierfür gebraucht.

Die gewonnenen Ergebnisse wurden statistisch ausgewertet. Es wurden die Standardabweichungen der Mittelwerte der einzelnen Tiergruppen für die untersuchten Stoffe berechnet, ferner die Signifikanz der gefundenen Unterschiede durch Berechnung der studentschen Konstante "t" und nach den entsprechenden "P" Werten aus Tabellen von FISHER und YATES geprüft. Als äusserste Signifikanzgrenze nahmen wir "P" Werte von 0,1 an.

Die Ergebnisse: Beim Spritzen ist mir keine einzige Ratte eingegangen, eine Ratte ging 3 Tage nach dem Spritzen ein. Während des Spritzens wurde die Narkose abgesetzt.

Nach dem Spritzen waren fast alle untersuchten Ratten länger als normal bewußtlos. In dieser Zeit haben sie nichts gefressen, sie machten deutlich einen kränklichen Eindruck.

Die Leber der Ratten zeigte deutlich die Blasenbildung, sie war ab und zu dunkelrot. Äusserlich konnte ich an Herz und Muskulatur nichts feststellen.

Tabelle 1a: Der wahre Kreatin- bzw. Kreatiningehalt der normalen Tiere.

Tabelle 1b: Zurückgebliebenes Chromogen der normalen Tiere.

Tabelle 2a: Der wahre Kreatin- bzw. Kreatiningehalt der Tiere, die 3 Tage nach der Hepatotoxininjektion getötet wurden.

Tabelle 2b: Das zurückgebliebene Chromogen der 3 Tage-Tiere.

Tabelle 3a: Der wahre Kreatin- bzw. Kreatiningehalt der Tiere, die 14 Tage nach der Hepatotoxin-Injektion getötet wurden.

Tabelle 3b: Die zurückgebliebene Chromogen der 14 Tage-Tiere.

Tabelle 4: Statistische Auswertung der verglichenen Gruppen, "t" Werte, "P" Werte.

Der Kreatin- und Kreatiningehalt der Organe entsprach den auch von anderen Autoren festgestellten Ergebnissen. Die Muskulatur enthält wesentlich mehr Kreatin und Kreatinin als andere Organe. Das wahre Kreatin lag in Leber und Niere wesentlich niedriger als das scheinbare Kreatin. Auch in Muskulatur war der wahre Kreatingehalt geringer als der scheinbare, jedoch nicht so hoch wie bei Leber und Niere. In Leber und Niere ist das Restchromogen, das eine JaffeReaktion gibt höher als das wahre Kreatin. Das Verhältnis liegt für die Muskulatur umgekehrt. Das wahre Kreatin ist hier wesentlich höher als das Restchromogen. Diese Resultate entsprachen auch denen von BAKER und MILLER, und zwar, dass der wahre Kreatingehalt der Organe viel niedriger ist als die mit der Jaffe'sche Reaktion gewonnenen Resultate.

Nach Hepatotoxininjektion war der Kreatingehalt der Leber, Niere, Muskulatur und Herz herabgesetzt und die Verminderung war besonders bei der Leber am stärksten, dann folgt Niere, Herz und Muskulatur. Wenn man die Mittelwerte betrachtet, sieht man wie mit der Dauer der Schädigung die Werte herabgesetzt werden, sowohl bei Leber, wie Niere, Herz und Muskulatur. Dementsprechend steigen die "t" Werte mit der Dauer der Schädigung. Der Abfall des Kreatins war in der Leber ca. 60 - 70 %, in der Niere ca. 50 % und in der Muskulatur ca. 10 %. In der Muskulatur, wenn man die einzelnen Zahlen betrachtet, hat man anfangs den Eindruck, dass sich nichts Empfindliches geändert hat, aber die Mittelwerte haben uns die wirklichen Resultate gezeigt.
Der Kreatiningehalt ist in der Leber ca. 80 % herabgesetzt, dann folgt Niere und Herz.
In der Muskulatur stiegen sogar die Kreatininwerte gering an. Ich stelle mir die Fragen: 1, Wird die Methylierung der Guanidoessigsäure zu Kreatin nur in der Leber stattfinden (LANG), oder sind andere Organe, wie Muskel, Niere und Herz auch zur Kreatinbildung fähig (BEARD und BARRENSCHEEN)?.
Über die Kreatinbildung, sowohl in Leberschnitten (BINKLEY und WATSON) und (LOVE und HARDIN), (COHLEN), wie in Niere und Muskulatur liegen bereits Arbeiten vor, sodass wir annehmen dürfen, dass das erforderliche Fermentsystem, wie die Transamidenase (BLOCH und SCHÖNHEIMER), (BORSOOK und DUBNOFF (2)) sowie (BLOCH und SCHÖNHEIMER (2)) sowohl in der Leber wie im Muskel vorhanden ist.
Wir haben durch die Leberschädigung mit Hepatotoxin eine Herabsetzung des Kreatingehaltes in Herz und Muskulatur beobachtet und zwar, je länger die Leberschädigung besteht, desto stärker wirkt sie sich mit zunehmender Intensität negativ auf den Kreatingehalt dieser Organe aus. Die Muskulatur als der grösste extrahepatische Kreatinproduzent und vor allem auch Kreatinspeicher, bewahrt sich am längsten eine, wenn auch verminderte, so doch noch beträchtliche Kreatinreserve. Doch schon innerhalb von zwei Wochen kam es auch hier zu einem erheblichen Schwund, der insbesondere am Herzmuskel Beachtung verdient, während er am Skelettmuskel wohl nur an der Muskelschwäche und Adynaamie der Leberkranken auslösend beteiligt ist. Es wäre interessant zu wissen warum man einen arterio-venosen Kreatinunterschied bei Menschen feststellen kann (JORDE). Wie JORDE aus seiner Untersuchung die Resultate gezogen hat, muß von der Leber zu anderen Organen ein Kreatinzufluß vor sich gehen.

Wenn ich meine vorliegenden Befunde mit dieser Beobachtung vergleiche, so glaube ich, eine Bekräftigung meiner Schlussfolgerung sehen zu drüfen, und zwar darin dass die Ursache der Kreatinverarmung des Organismus eine zunehmende Störung der Leberfunktion sein muss.
Die Ursache des verminderten Kreatingehalts der Organe dürfte bei Leber wohl in erster Linie die Folge der Zellschädigung sein, die zur Reduktion der Kreatinbildung und Speicherung führt.
In der Niere kommt ursächlich für die verminderte Kreatinspeicherung ausser einer Verringerung der lokalen Kreatinbildung, auch ein verminderter Nachschub von Kreatin sowohl von seiten der Leber, als auch der Muskulatur in Frage. Darüber hinaus scheint die Muskulatur nicht in der Lage zu sein, etwa durch Steigerung ihrer Eigenproduktion an Kreatin substituieren, den Ausfall der Leber in seiner Auswirkung auf die anderen Organe auszugleichen.
Wir können die Rolle der Leber in der Kreatinsynthese folgendermaßen verteilen:

1, Leber methyliert Guanidoessigsäure zu Kreatin.
2, Die Bildung von Methyldonatoren sowie anderer Enzyme und Fermente die sich indirekt an Kreatinbildung sowohl in Leber wie auch in anderen Organe beteiligen (DUBNOFF), sowie (BENNING, KEITH und DAY) und (CANTONI).
3, Die Bildung der beiden wichtigsten Energiespeicher des Organismus (KALCKAR).

Kreatin wird in der Muskulatur hauptsächlich als Phosphagen gespeichert und die Leber spielt bei der Resynthese von ATP, und damit Phosphagen, eine wichtige Rolle, (KREBS, JOHNSON, EGGLESTON und HEMS), sowie (KALCKAR).
Damit dürfen wir annehmen, dass es hier zu einer Störung der Gleichgewichtsreaktion des Kreatins in der Muskulatur gekommen sein muß.

ZUSAMMENFASSUNG:

Wir haben versucht, eine Leberschädigung bei weissen Ratten zu erzeugen, indem wir den Ratten 1 ccm pro 100 gr. Körpergewicht hepatotoxischen Serum sensibilisierter Kaninchen i.v. injizierten.
Anschliessend haben wir die Auswirkung der Leberschädigung auf den Kreatingehalt der Leber, Niere und Muskulatur nach drei und vierzehn Tagen geprüft.
2, Der Kreatingehalt der Organe wurde im wässrigen Extrakt nach einer Modifikation von MOLLER, ALLINSON, BAKER, bestimmt.
3, Wir haben eine Verminderung des Kreatingehalts der Leber, Niere, Herz und Muskulatur festgestellt, sie war schon nach 3 Tagen zu beobachten und hat während der ersten zwei Wochen auch noch zugenommen.
4, Die Rolle der Leber im Kreatinstoffwechsel wurde diskutiert. Nach meiner Meinung nimmt die Leber sowohl direkt, wie indirekt an der Kreatinbildung teil. Nach der Leberschädigung erhält die Muskulatur nicht mehr: 1, die Substanzen, die sie zu Kreatinbildung benötigt.
2, Das Kreatin, das in der Leber gebildet wird.

Tabelle Nr. 1 a Normale Tiere

Ratten Nr.	Wahres Kreatin				Wahres Kreatinin			
	Leber	Niere	Muskel	Herz	Leber	Niere	Muskel	Herz
1	6,38	25,05	458,396	-	0,8	6,6	66,7	-
2	10,09	27,49	566,08	-	1,1	6,3	81,7	-
3	5,91	35,61	412,6	-	1,9	3,3	50,1	-
4	6,49	8,23	547,17	-	5,6	10,7	79,8	-
5	8,93	14,5	554,48	-	3,9	12,5	52,6	-
6	2,85	22,7	687,07	174,81	1,2	6,4	34,13	60,7
Mittel.	7,26	22,28	535,97	174,81	2,41	7,63	60,83	60,7
± O	2,58	9,69	78,47		1,91	3,35	18,57	

Tabelle Nr. 2 a **14** Tage Tiere

Ratten Nr.	Wahres Kreatin				Wahres Kreatinin			
	Leber	Niere	Muskel	Herz	Leber	Niere	Muskel	Herz
28	-	15,01	389,7	-	-	13,89	74,4	-
29	3,71	0,116	568,98	-	1	16,6	81,5	-
58	5,22	8,58	486,8	-	-	7,3	89,3	-
326	5,1	10,9	455,98	-	-	10,4	58,8	-
91	0,812	22,27	439,75	-	0,2	1,7	87,7	-
98	1,9	17,4	465,69	-	0,5	2,5	54,7	-
44	0,02	13,8	487,61	-	0,4	3,4	48,6	-
87	0,12	10,01	457,5	-	0,54	1,37	72,09	-
88	2,71	13,93	497,9	-	0,51	4,09	75,32	-
95	4,03	14,67	423,4	-	0,34	1,7	60,4	-
66	0,69	-	585,7	195,33	0,1	-	71,86	52,9
1´	0,3	4,89	482,7	140,43	0,04	1,48	88,4	50,9
2´	0	2,32	532,36	141,98	0	0,7	106,88	55,1
Mittel.	2,06	11,86	478,04	159,25	0,36	5,42	74,6	52,55
± O	2,02	6,42	57,8	30,4	0,29	5,	16,5	2,55

Tabelle Nr. 3 a   14 Tage Tiere

	Wahres Kreatin				Wahres Kreatinin			
Ratten Nr.	Leber	Niere	Muskel	Herz	Leber	Niere	Muskel	Herz
26	-	9,44	407,16	-	1,5	8,9	59,8	-
27	5,33	-	415,8	-	-	10,4	61,7	-
30	-	-	446,7	-	-	23,39	63,9	-
59	-	-	371,17	-	-	-	73,9	-
48	-	--	428,85	-	-	-	52,8	-
359	0,84	22,6	479,4	-	0,37	2,5	68,68	-
358	1,03	20,24	401,8	-	0,17	2,95	58,53	-
90	0,139	10,2	486,9	-	0,28	1,92	61,6	-
93	1,21	14,32	408,85	-	0,2	2,7	79,6	-
37	2,08	12	508,9	-	0,2	1,45	89,4	-
458	0	1,45	423	75,01	0,1	0,76	77,11	48,47
479	0	3,02	436,3	196,04	0,6	1,9	102	79
478	0,23	0,07	456,22	64,96	0,1	3,5	76,3	29
477	0,116	0,81	442,6	172,72	0,2	2,7	80,6	48,9
Mittel.		9,4	436,65	127,9	0,37	5,25	71,85	51,34
±	1,59	8,12	40,14	66	0,42	6,42	13,5	20,64

Rest Chromogen Tabelle Nr. 1 b Normale Tiere

Ratten Nr.	A. Vor saurer Hydrolyse				B. Nach saurer Hydrolyse			
	Leber	Niere	Muskel	Herz	Leber	Niere	Muskel	Herz
1	7,7	19,2	13,6	-	28,7	37,6	88	-
2	13,5	10,4	18,3	-	34,1	20,4	63,3	-
3	11,7	10	16,9	-	33	40	100	-
4	9,3	17,8	13,8	-	33,5	35,7	46,5	-
5	15,3	-	7,4	-	30,7	25	52,4	-
6	10,7	18,7	9,07	21,9	17,84	29,9	19,37	37,1
Mittel.	11,3	15,2	13,07	21,9	29,64	31,1	61,59	37,1
$\pm$ O	2,61	4,61	4,25		3,89	6,33	28,7	

Rest Chromogen Tabelle Nr. 2 b 3 Tage Tiere

Ratten Nr.	A. Vor saurer Hydrolyse				B. Nach saurer Hydrolyse			
	Leber	Niere	Muskel	Herz	Leber	Niere	Muskel	Herz
28	5,8	-	-	-	11,9	27,78	54,7	-
29	3,2	-	14,6	-	8,5	16,6	42	-
58	4,4	-	8,8	-	8,6	14,7	40,1	-
326	4,3	-	11,6	-	12,8	20,8	64,6	-
91	6,1	9,3	3,3	-	14,6	18,1	82,3	-
98	6	9,16	17,3	-	11,7	18,33	118	-
44	5,4	10,4	11,56	-	13,5	20,4	96	-
87	4,7	3,9	9,11	-	12,95	14,2	45,5	-
88	7,89	4,16	11,3	-	13,6	18,3	68,4	-
85	7,46	8,3	12,6	-	10,7	22,25	76,39	-
66	3,1	-	9,7	29,2	7,7	26,1	30,3	24,5
1´	3,1	13,32	34,6	17,2	8,8	27,3	4,58	21,14
2´	4,1	14,3	31,9	18,6	9,4	25,3	29,4	20
Mittel.	5,1	9,3	14,6	21,6	11,13	20,78	57,8	21,8
± O	1,5	3,76	6,37	6,55	2,3	4,49	30,68	2,35

Rest Chromogen Tabelle Nr. 3 b 14 Tage Tiere

Ratten Nr.	A. Vor saurer Hydrolyse				B. Nach saurer Hydrolyse			
	Leber	Niere	Muskel	Herz	Leber	Niere	Muskel	Herz
26	3	-	14	-	9,3	17,8	72,2	-
27	4,5	-	10,3	-	9,1	40,8	51,8	-
30	5,1	7,81	14,1	-	13,6	15,8	64,8	-
59	3,8	-	17	-	7,6	35,6	92,4	-
48	3,47	-	17,6	-	11,1	33,3	44	-
359	5,13	7,5	13,82	-	11,8	25	72,31	-
358	4,03	9,4	17,27	-	9,29	25,6	89,3	-
90	4,3	6,15	4,5	-	10,2	13	36,17	-
93	5,8	6,6	15,3	-	10	17,2	75	-
37	5,5	5,55	9	-	12,9	11	87,6	-
458	5,1	12,7	14,6	17,93	6,4	27,5	32,7	18,8
479	5,5	10,9	32,2	24	9,7	38,2	41,6	40
478	2,8	14,1	18,7	10	9,2	46,4	35,3	13
477	3,8	13,3	21,4	14,4	7,2	30,6	47,8	25,5
Mittel.	4,27	9,3	15,6	16,5	9,8	26,9	60,21	24,3
± O	0,99	3,07	6,61	5,89	1,87	10,9	21,7	11,5

Tabelle 4

Verglichene Gruppen	"t" - Werte			"P" - Werte		
	Leber	Niere	Muskel	Leber	Niere	Muskel
Kreatiningehalte:						
gesunde Tiere: 3 Tage	3,3	0,9	1,82	0,01	0,1	0,1
gesunde Tiere: 14 Tage	3,2	0,84	1,49	0,01	0,01	0,1
3 Tage Tiere: 14 Tage	0,06	0,07	0,47	0,1	0,1	0,1
Kreatingehalte:						
gesunde Tiere: 3 Tage	4,7	2,7	1,81	0,001	0,02	0,09
gesunde Tiere: 14 Tage	5,78	2,9	3,78	0,001	0,02	0,001
3 Tage Tiere: 14 Tage	1,05	0,75	2,21	0,1	0,1	0,03

LITERATURVERZEICHNIS

Abderhalden, E. und S. Buadze: Z. exper. med. 65, 1, 1929

Abelin, I., und J. Raaflaub: Biochem. Z. 323, 382, 1952

Albzrn, H.E. and V.C. Meyer: J. biol.Chem. 131, 713, 1939

Askonas, B. A.: Nature 167, 933, 1951

Baker, Z. and B. F. Miller: J. biol. chem. 130, 393, 1939

Barrenscheen, H.K. und T. V. Valyi-Nagy: Z. Physiol. chem. 277, 97, 1942; 283, 91, 1948

Barrit, M. M.: J. Pathol. Bakter. 42, 441, 1936

Baumann, L. and H.M. Hines: J. of biol. chem. 31, 549, 1917

Baumann, L. and J. Jngvoldsen: Biol. chem. 35, 277, 1918

Beard, H. H.: "Creatin, und creatinin metabolism" Brooklyn, N.Y., U.S.A. Chem. Publishing Co., 1943

Becker, J.C.: H. 87, 21, 1913

Benedict,: Ebenda 81, 1, 1929

Benedict, S.R. and J.A. Behre: J.biol. chem. 114, 515, 1936

Binkley, F. und J. Watson: J. biol. chem. 180, 971, 1949

Bloch, K. und R. Schoenheimer: J. biol. chem. 138, 155, 167, 1941

Bloch and Schönheimer, R.(2): J. biol. chem. 133, 633, 1940; 138, 167, 1941

Borsook, H. und J. W. Dubnoff: J. biol. chem. 132, 559, 1940; 134, 635, 1940

Borsook, H. und J.W. Dubnoff (2): J. biol. chem. 132, 307, 1940; 169, 461, 1947

Burger, M.: Z. exper. med. 9, 262, 1919

Cantoni, G.L.: J. biol. chem. 189, 203, 745, 1951

Cohen, P.P.: J. biol. chem. 136, 565, 1940

Dinning, J. S., C. K. Keith, u. P. L. Day: J. biol. chem. 189, 515, 1951

Dubnoff, J. W.: Arch. Biochem. 24, 251, 1949.

Dubnoff u. H. Borsook: J. biol. chem. 176, 789, 1948

Eggleton, P. und M.C. Eggleton: Biochem. J. 21, 190, 1927

Eggleton, P., S. R. Elsden u. N. Gough: Biochem. J. 37, 526, 1943

Ennor, A. H. u. L. A. Stocken: J. 42, 557, 1948

Folin, O.: H. 228, 268, 1934

Fürth, : H. der physiol. von Oppenheimer, 2. Auflage. Bd. VIII, 627, 1925

Greenwald, I.: Amer. Soc. 41, 1109, 1919

Hahn, A. u. G. Barkan: Z. Biol. 72, 25, 1920

Hahn, A. u. G. Barkan (2): Z. biol. 72, 25, 305, 1920

Handler, P. u. Schönheimer, R.: J. biol. chem. 150, 335, 1943

Harden, A. u. D. Norris: J. Physiol. London 42, 332, 1911

Janny, N. W. a. N. R. Blatherwick: J. biol. chem. 21, 567, 1915

Jorde, W. O. (1): Z. für die gesam. exper. Med. Bd. 126, S. 145, 1955

Jorde, W. O. (2): Klin. Wschr. 1950, 634

Jorde, W. O. (3):

Krebs, H. A., M. Jonson, L.V. Eggleton, V.R. Hems: Biochem. J. 49 XXXV, 1951

Kalcker, H.M.:	J. biol. chem. 158, 723, 1945; 167, 445, 477, 1947 Biochem. Biophys. Acta 4, 232, 1950
Kest, C.H. a. M.E. Hantsman:	J. Physiol. (London):75, 405, 1939
Lang, K.:	H. der intermediäre Stoffwechsel. 1952
Lang, K. u. E. Lehnartz:	H.
Lambert, G. F.:	J. biol. chem. 161, 679, 1945
Lehnartz, E.:	H. 271, 265, 1941
Lehnartz, E. (2):	Z. physiol. chem. 184, 1, 1929
Lehnartz, E. u. R. Jensen:	Z. physiol. chem. 271, 275, 1951
Liebe, H. u. Zacherl:	H. 223, 169, 1934; 232, 41, 1935.
Liebig,:	Liebigs Ann. 62, 257, 1847
Love, E.L. a. J. O. Hardin:	J. pharm. a. exper. Ther. 106, 88, 1952
Landssgaard, E.:	Biochem. 217, 51, 162, 1930; 223, 322, 1931
Menne, F.:	Z. Physio.chem. 273, 269, 1942,; 279, 105, 1943
Meyer, V. C. a. M. S. Fine (1):	J. biol. chem. 14, 9, 1913
Müller, E.:	H. der Ohysiol u. Phath. chemi. Analyse
Owen, J. A., B. Jego, F. J. Scandrett a. C. P. Stewart:	Berichte über d. ges. Physiol. und Pharm. 174, 189, 1955
Neubauer, C.:	O. Folin u. K. Dirr: "Quantitatives Arbeiten in Klinik" 1951
Pitts,	
Popper, H., u. Mandel, E., Mayer, H.:	Biochem. Z. 291, 354, 1937

Rappaport,: Mikrochemie des Blutes 1935

Riesser, O.: H. 86, 415, 1913; 120, 189, 1922

Röttger, H.: B.Z. 319, 359, 1949

Schenk, J.R., S. Simmonds, M.Cohn, C.M.Stevens and V. DU. Vigneaud: J. biol. chem. 149, 519, 1943

Schönheimer, R.: The dynamid, state of bodyconstituents. Cambridge (Mass) 1941

Simmonds, S., M.Cohn, J.P.Chandler a. V.DU. Vigneaud: J. biol. chem. 149, 519, 1943

Steenholt, G.: Acta physiol.Scand.: 17, 276, 1949; 18, 26, 1949

Stetten, Du Witt jr.: J. biol. chem. 140, 143, 1941

Vigneaud, V. Du, J.P. Chandler, A.W. Moyer u. D.H. Keppel: J. biol. chem. 131, 57, 1939

Vigneaud, V. Du, M. Cohn, J.P. Chandler, J.R. Schenk, and S. Simmonds: J. biol. chem. 140, 625, 1941

Vigneaud, V. Du, C. Ressler u. J.R. Rachele: Science 112, 267, 1950; J. Nutrit. 45, 361, 1951

Vigneaud, V. Du. S. Simmonds, J. P. Chandler, and M.Cohn: J. biol. chem. 165, 639, 1946.

LEBENSLAUF

Am 4. Mai 1932 wurde ich in Isfahan geboren, wo ich auch meine Kindheit verbrachte. Ich besuchte die Grundschule "Golbahar" und die Oberschule "Sahdi" in Isfahan. Die letzte Klasse der Oberschule absolvierte ich in der Schule "Marvi" in Teheran. Nach der Schulausbildung war ich ein Jahr in der Chemischen Fakultät an der Universität Teheran. Am 23. April 1951 kam ich nach Deutschland und studierte Medizin. Die ersten sechs Semester hörte ich in Bonn und bestand dort das Physikum. Ich setzte mein Studium in München fort und beendete es am 12. Juni 1957 mit dem Staatsexamen.